

胚性ゲノム活性化を保證するエピゲノム制御機構の 解明

著者	杉山 昂太
URL	http://hdl.handle.net/10236/00028911

胚性ゲノム活性化を保証するエピゲノム制御機構の解明

関西学院大学大学院理工学研究科
生命医化学専攻 関研究室 杉山昂太

多細胞生物においては、受精直後の初期化により全能性が確立され、分化に伴いながら多能性へと移行し、やがては多能性が消失し各体細胞へと分化する。この全能性の確立には、発生初期に起きる、胚性ゲノム活性（ZGA）が非常に重要なイベントである。マウスでは、2細胞期後期に ZGA が引き起こされるが、同時期にヒストン修飾の再編成、父性ゲノム DNA の脱メチル化及びオープンクロマチン領域の形成などのエピゲノムの広範囲な再編成も観察される。しかし、このようなエピゲノムの再編成と ZGA の因果関係は不明である。また近年、培養中のマウス ES 細胞において、1%以下の割合で 2細胞期胚に近い性質を持つ 2細胞様細胞（2CLC）が存在することが示されており、全能性を制御する分子基盤解明の有用なツールとして期待されている。

我々は、マウスの始原生殖細胞形成に必須の転写因子、PRDM14 に着目しており、多能性関連遺伝子の発現誘導と分化関連遺伝子の発現抑制という異なる機能を有することを明らかとしている。また、PRDM14 抑制複合体パートナーとして同定した転写抑制仲介因子 CTBP1/2 をマウス ES 細胞で二重欠損（DKO）すると、予想外なことに MERV1 陽性細胞の割合が 0.1%から 30%程度まで増加することを明らかとした。また、Ctbp1/2 DKO ES 細胞を血清+LIF (S/L) の通常培養条件から、2i(ERK、GSK3 β の阻害剤)+LIF (2i/L) の培養条件に移行させることで、70%程度の細胞が MERV1 陽性細胞へ移行することを明らかとした。そこで、本研究では Ctbp1/2 と 2i/LIF のシグナルを切り口とし、ZGA 及び多能性幹細胞から 2CLC への変換過程における詳細な分子機構を明らかとすることを目的とする。まず、2i/LIF 培養条件の特徴として、DNA の脱メチル化が誘導されることが報告されている。そこで、DNA の脱メチル化と 2CLC の出現の関係性を検証するため、DNA メチル化維持酵素 Dnmt1 Ctbp1/2 三重欠損（TKO）ES 細胞を樹立し、解析を試みた。その結果、TKO ES 細胞は S/L 培養条件でほぼ全ての細胞が MERV1 陽性細胞へと移行していることを明らかとした。そのため、2i/LIF 移行により DNA 脱メチル化が生じ、クロマチン構造が変化することで 2CLC への移行が促進されている可能性が示唆された。また、2CLC 出現における Ctbp1/2 の作用点を明らかとするために、RNA-Sequencing を行い遺伝子発現変化を網羅的に解析した。その結果 2細胞期遺伝子転写因子である DUX の発現上昇が観察された。これまでの先行研究では 2CLC の出現は DUX に依存しているとされてきた。しかし、今回 Dux Ctbp1/2 TKOES 細胞を樹立したところ、予想外なことに MERV1 陽性細胞の割合が Ctbp1/2 DKO ES 細胞とほぼ変化が観察されなかった。このことより、CTBP1/2 は DUX 非依存的な経路を制御することで 2CLC の出現を制御している可能性が示唆された。